

⑦

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-137328

(P2001-137328A)

(43) 公開日 平成13年5月22日 (2001.5.22)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テマコード(参考)

A 6 1 L 27/00

A 6 1 L 27/00

G 4 C 0 8 1

J

審査請求 未請求 請求項の数5 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平11-321294

(22) 出願日 平成11年11月11日 (1999. 11. 11)

(71) 出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72) 発明者 入江 洋之

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ

ンパス光学工業株式会社内

(74) 代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外4名)

Fターム(参考) 4C081 AB04 BA12 BA16 BC02 CD082

CD112 CD132 CD152 CD27

CD28 CF021 DA01 DA11

DB03 DB05 DB06 DC12 EA04

(54) 【発明の名称】 骨補填材

(57) 【要約】

【課題】 優れた骨形成促進能を有する骨補填材を提供すること。

【解決手段】 多孔質β-リン酸三カルシウム(β-TCP)と骨誘導因子とを含有することを特徴とする。多孔質β-TCPは、連通気孔を有し、気孔率が60~80%、気孔径50~1000μmの全気孔の容積率が30~70%、気孔径5μm以下の全気孔の容積率が10~40%である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】多孔質 $\beta$ -リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)と骨誘導因子とを含有することを特徴とする骨形成を促進する骨補填材。

【請求項2】多孔質 $\beta$ -TCPと、骨誘導因子と、アテロコラーゲン、ヒアルロン酸、フィブリン糊およびゼラチンからなる群から選ばれた少なくとも1種とを含有することを特徴とする骨形成を促進する骨補填材。

【請求項3】前記多孔質 $\beta$ -TCPは、炭酸カルシウム、リン酸水素カルシウムおよびリン酸水素カルシウム2水和物からなる群から選ばれた少なくとも1種を湿式粉碎した後、乾燥し、焼成して得た $\beta$ -TCP粉末を、界面活性剤を用いて湿式で発泡成形し、乾燥した後焼成して得た多孔体あるいは多孔質顆粒であることを特徴とする請求項1または2に記載の骨補填材。

【請求項4】前記多孔質 $\beta$ -TCPは、連通気孔を有し、気孔率が60~80%、気孔径50~1000 $\mu$ mの全気孔の容積率が30~70%、気孔径5 $\mu$ m以下の全気孔の容積率が10~40%であることを特徴とする請求項1または2に記載の骨形成を促進する骨補填材。

【請求項5】前記骨誘導因子は、BMP、TGF- $\beta$ 、FGF、IGFおよびPDGFからなる群から選ばれた少なくとも1種であることを特徴とする請求項1または2に記載の骨補填材。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、骨補填材に係り、特に、優れた骨形成促進能を有する骨補填材に関する。

## 【0002】

【従来の技術】近年、整形外科などの領域において、様々な疾患により生じる骨欠損の修復に、人工骨を用いることが普及している。人工骨の材料としては、リン酸カルシウム系のセラミックスが多く用いられている。

【0003】しかし、リン酸カルシウム系セラミック材料は、生体適合性に優れ、良好な骨伝導能を有し、骨形成の足場として有効に作用するものの、骨欠損の重症度が大きい場合には、リン酸カルシウム系セラミック材料単独での修復は困難であるという問題がある。

【0004】従って、このような症例に対しては、自家骨を移植する選択肢しかなく、採骨量に限りがあるなどの場合には、骨欠損の修復は困難であった。

【0005】このような背景から、骨欠損の重症度が高い症例に対しては、より骨形成能の高い、すなわち骨誘導活性を有する材料が求められている。このような材料として、骨形成を誘導する細胞増殖因子と、セラミック材料からなるキャリアーとを複合した材料が提案されている。

【0006】例えば、特開平7-2691号公報には、形質転換成長因子(TGF- $\beta$ )とハイドロキシアパタイト(HAP)/リン酸三カルシウム(TCP)との複

合材料、およびTGF- $\beta$ と硫酸カルシウムとの複合材料が、特開平7-171211号公報には、繊維芽細胞成長因子(FGF)と、HAP、TCP、またはリン酸四カルシウム(TeCP)との複合材料が、特開平7-246235号公報には、BMPとHAP/TCPとの複合材料が、特表平8-505548号公報には、TGF- $\beta$ とTCPの複合材料よりなる移植材が骨形成を促進する、あるいは骨を誘導することが、それぞれ開示されている。

【0007】骨形成を促進するためには、骨誘導因子とそのキャリアーを複合した材料が有効であるが、キャリアーとする材料は、次のような条件を満たしていることが重要である。即ち、キャリアーは骨誘導因子を保持するだけでなく、生体適合性が高く、かつ骨誘導因子の活性の妨げにならないものでなければならない。また、骨伝導能を有し、かつ移植部の骨の形成の進行とともにキャリアー自身は吸収されることが必要である。

【0008】特開平7-88174号公報には、BMPの担体として、コラーゲンやポリ乳酸グリコール酸を用いることが開示されている。コラーゲンやポリ乳酸グリコール酸などは生分解性であり、上述のキャリアーとしての条件のうち、分解・吸収性は満たしているが、骨伝導能に乏しく、この点で不十分である。

【0009】一方、上述のリン酸カルシウム系セラミックスは、骨伝導能に優れており、この点では好ましいキャリアーと言える。しかし、リン酸カルシウムの中で、人工骨としてもっとも一般的なHAPは、生体内では吸収されにくく、この点では好ましくない。これに対し、 $\beta$ -リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)は、優れた吸収性を有しており、骨伝導能の性質と併せると、キャリアーとしてはもっとも好ましい材料である。

## 【0010】

【発明が解決しようとする課題】 $\beta$ -TCPは、以前より単独で骨補填材として用いられている。しかし、アルタマツ(Altarmatt)らの報告(Eur. J. Pediatr. Surg. 2, 180~182)によると、多孔質 $\beta$ -TCPを骨嚢腫に適用して経過観察し、最長7年でも依然として材料が補填部に残存していることが確認されている。

【0011】 $\beta$ -TCPは、基本的には吸収される性質を有しているが、このように長期にわたり残存するケースがあることは、一義的に $\beta$ -TCPという物質であれば良いという訳でないことを示している。

【0012】実用上は、 $\beta$ -TCPの純度が問題になる。 $\beta$ -TCPは一般に、乾式で炭酸カルシウムとリン酸水素カルシウムを固相反応させる方法や、湿式でCaイオンとPイオンを反応させる方法により製造される。

【0013】しかし、乾式法では、反応が不均質で、未反応物が若干残ったり、一般に生成した粉末は焼結特性に乏しいという難点がある。湿式法では、温度やpHの

10

20

30

40

50

微妙な調整が必要であり、CaとPの比が化学量論値から若干ずれたり、微量な副生成物が含まれる場合がある。

【0014】また、素材の性質は、製造されるプロセスの影響を大きく受けるということが出来、製造プロセスに問題があれば、応用段階、実用段階において所望の結果が得られないことになる。従来技術に示した開示例では、この点が全く検討されていない。

【0015】本発明は、以上の事情を考慮してなされ、優れた骨形成促進能を有する骨補填材を提供することを目的とする。

【0016】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するため、本発明者は、鋭意検討を重ねた結果、 $\beta$ -TCPの性状、特に製造プロセスと気孔性状が、骨伝導能と吸収性に影響を与える因子であり、これらを踏まえた $\beta$ -TCPと骨誘導因子との複合により、骨形成を促進する理想的な骨補填材を提供することが出来ることを見出した。本発明は、このような知見に基づくものである。

【0017】即ち、本発明は、多孔質 $\beta$ -リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)と骨誘導因子とを含有することを特徴とする骨形成を促進する骨補填材を提供する。

【0018】このように構成される本発明に係る骨補填材は、優れた骨形成促進能を有している。

【0019】本発明の骨補填材に用いられる $\beta$ -TCPは、高純度で優れた骨伝導能と吸収性を有する、多孔質 $\beta$ -TCPである。多孔質 $\beta$ -TCPは、連通気孔を有し、気孔率が60~80%、気孔径50~1000 $\mu$ mの全気孔の容積率が30~70%、5 $\mu$ m以下の全気孔の容積率が10~40%であるものが望ましい。

【0020】気孔率が60%未満では、連通する気孔が十分に確保できず、80%を越えると、強度が低下して取り扱いがしにくくなる傾向となり、好ましくない。

【0021】気孔径50~1000 $\mu$ mのマクロ気孔は、骨形成に関与する細胞の進入、血管新生などに寄与し、気孔径5 $\mu$ m以下のミクロ気孔は、吸収されやすさなど化学的な作用を促進するのに寄与する。マクロ気孔の気孔径は100~400 $\mu$ m、ミクロ気孔の気孔径は1 $\mu$ m以下であることがさらに望ましい。

【0022】マクロ気孔の容積率が上記値より低く、ミクロ気孔の容積率が上記値より高いと、細胞が進入するエリアが減少し、マクロ気孔の容積率が上記値より高く、ミクロ気孔の容積率が上記値より低いと、微細部での吸収がされにくくなる傾向となり、好ましくない。

【0023】高純度の $\beta$ -TCPは、湿式粉碎法で作製するものが、骨組織の代替材料として用いる材料の成分として優れている。この湿式粉碎法は、炭酸カルシウムとリン酸水素カルシウム2水和物をCaとPのモル比が1.5となるように秤量し、これら粉末に純水を加えて10重量%の水性スラリーとし、これをボールミルにて

湿式粉碎し、例えば80℃で乾燥し、その後720~1150℃で、好ましくは720~900℃で1~10時間、またはそれ以上焼成して、 $\beta$ -TCPを得るものである。

【0024】この方法によれば、原料の秤量値によりCaとPの比を制御することができ、純度が高く、かつ焼結性に優れた $\beta$ -TCPが得られる。

【0025】優れた骨伝導能と吸収性を有する多孔質 $\beta$ -TCPは、例えば、特許第2597355号公報に記載されている方法により作製することが出来る。即ち、上述のように湿式粉碎法により得た $\beta$ -TCP粉末に、解膠剤および起泡剤を加え、湿式発泡成形した後、乾燥し、950~1050℃の温度で焼成して、多孔体を得るものである。

【0026】使用される解膠剤としては、例えばポリアクリル酸アンモニウム塩のようなポリアクリル酸誘導体からなる水溶性高分子化合物を用いることができる。

【0027】また、起泡剤としては、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアリルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアミン、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル、デカグリセリンモノラウレート、アルカノールアミド、およびポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール共重合体等の非イオン性界面活性剤、またはこれら非イオン性界面活性剤に酸化エチレンを添加したものを用いることが出来る。

【0028】乾燥は、40℃前後の温度で10~20時間行うことが望ましく、焼成は、100~300℃/時間の昇温速度で1000~1300℃まで昇温し、この温度で0.5~1時間保持することにより行うことが望ましい。

【0029】以上のような方法により、連通気孔を有し、気孔率が60~80%、気孔径50~1000 $\mu$ mの全気孔の容積率が30~70%、5 $\mu$ m以下の全気孔の容積率が10~40%である気孔性状を有する多孔質 $\beta$ -TCPを得ることができる。

【0030】一方、骨誘導因子としては、骨形成因子(BMP)、形質転換成長因子(TGF- $\beta$ )、繊維芽細胞成長因子(FGF)、インスリン様成長因子(IGF)、血小板由来成長因子(PDGF)などを用いることができ、さらにこれらを2種以上組合せても良い。これらの細胞増殖因子は、間葉系細胞から骨芽細胞への分化、骨形成に至る過程における細胞の増殖、分化に強力に作用する。

【0031】BMPとしてはBMP-2、4、5、7が、FGFとしてbFGFが、いずれも高い骨誘導活性を示すので、これらを用いるのが特に望ましい。このような $\beta$ -TCPと骨誘導因子とを混合することにより複合化し、骨補填材とすることにより、良好に骨形成を促進する骨補填材を得ることができる。

【0032】なお、骨補填材中の骨誘導因子の量は、種により異なるが、通常、数 $\mu\text{g/g}$ ～数 $10\text{mg/g}$ であることが望ましい。

【0033】また、 $\beta$ -TCPとこれらの骨誘導因子を複合する際、生体内で分解吸収されるアテロコラーゲン、ヒアルロン酸、フィブリン糊、およびゼラチンの少なくともいずれかを添加して複合すると、骨誘導因子の保持性が更に高まり、この点でより望ましい。これらの物質の添加量は、 $0.5\text{ml/g}$ ～ $3\text{ml/g}$ が望ましい。

【0034】

【発明の実施の形態】以下、本発明の種々の実施の形態について説明する。

【0035】（第1の実施の形態）炭酸カルシウム粉末とリン酸水素カルシウム2水和物をモル比で1：2の割合で秤量し、純水とともにボールミルポットに入れ、約1日ボールミルにて混合粉碎した。得られたスラリーを約 $80^\circ\text{C}$ で乾燥し、その後 $750^\circ\text{C}$ で焼成した。得られた粉末は、X線回折パターンで $\beta$ -TCP単一相を示し、焼結性に優れた高純度な $\beta$ -TCPであった。

【0036】この $\beta$ -TCP粉末に、純水、アクリル酸アンモニウム系の解膠剤、およびポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル系の界面活性剤を添加し、混合攪拌して、発泡スラリーを調製した。この発泡スラリーを乾燥させ、その後 $1050^\circ\text{C}$ で焼成して、 $\beta$ -TCP多孔体を得た。

【0037】この多孔体は、気孔率が75%、気孔径は $100\sim400\mu\text{m}$ および $1\sim0.1\mu\text{m}$ の2つの領域に分布を有するものであった。この多孔体1ccに、緩衝液に溶解したrhBMP-2を $10\sim1000\mu\text{g}$ を加え、凍結乾燥し、骨補填材とした。

【0038】このようにして製造された骨補填材は、骨形成を促進することが出来、BMPの骨芽細胞への分化の促進と $\beta$ -TCPの骨形成の足場となる作用により、

骨の新生を早期に進行させるとともに、 $\beta$ -TCPは経時的に吸収されるという理想的な骨補填材としての性能を有していた。

【0039】（第2の実施の形態）第1の実施の形態と同様にして、 $\beta$ -TCP粉末を合成し、多孔体を作製した。この多孔体を $0.5\sim3\text{mm}$ の粒径の顆粒に粉碎し、この顆粒1g当たりbFGFを $10\sim500\mu\text{g}$ 、3%のヒアルロン酸ナトリウム溶液1mlを混合して、骨補填材とした。

10 【0040】このようにして製造された骨補填材は、骨形成を促進することが出来、bFGFの骨誘導能と $\beta$ -TCPの骨形成の足場となる作用により、骨の新生を早期に進行させるとともに、 $\beta$ -TCPは経時的に吸収されるという理想的な骨補填材としての性能を有していた。

【0041】（第3の実施の形態）第1の実施の形態と同様にして、 $\beta$ -TCP粉末を合成し、多孔体を作製した。この多孔体を $1\sim5\text{mm}$ の顆粒に粉碎し、この顆粒1g当たりTGF- $\beta$ を $10\sim500\mu\text{g}$ 、3%のアテロコラーゲン溶液1mlを混合して、コラーゲンをゲル化させ、骨補填材とした。

【0042】このようにして製造された骨補填材は、骨形成を促進することが出来、TGF- $\beta$ の骨誘導能と $\beta$ -TCPの骨形成の足場となる作用により、骨の新生を早期に進行させるとともに、 $\beta$ -TCPは経時的に吸収されるという理想的な骨補填材としての性能を有していた。

【0043】

【発明の効果】以上、詳細に説明したように、本発明によれば、多孔質 $\beta$ -TCPと骨誘導因子とを複合してなる骨補填材において、骨誘導因子のキャリアーである $\beta$ -TCPが優れた骨伝導能を有しかつ生体吸収性を有することにより、優れた骨形成促進能を有する骨補填材を提供することができる。